UNIVERSITE PARIS VI - PIERRE ET MARIE CURIE

FACULTE BROUSSAIS - HOTEL-DIEU

ANNEE : 1975

154

THESE

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Eléna PERNITCHEVA épouse ROSTAING

Née le 6.09.1933 à Péroustiza (Bulgarie).

Présentée et soutenue publiquement le : 1975.

ACTION DES HORMONES POLYPEPTIQUES PLACENTAIRES HCG ET HCS SUR LA TRANSFORMATION BLASTIQUE DES LYMPHOCYTES EN CULTURES MIXTES

ROLE EVENTUEL DE CES HORMONES DANS LES PROCESSUS IMMUNITAIRES DE LA GROSSESSE

Président de la thèse : Monsieur Paul MORIN, Professeur.

UNIVERSITE PARIS VI - PIERRE ET MARIE CURIE

FACULTE BROUSSAIS - HOTEL-DIEU

ANNEE : 1975 N°

THESE

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Eléna PERNITCHEVA épouse ROSTAING

Née le 6.09.1933 à Péroustiza (Bulgarie).

Présentée et soutenue publiquement le : 1975.

ACTION DES HORMONES POLYPEPTIQUES PLACENTAIRES HCG ET HCS SUR LA TRANSFORMATION BLASTIQUE DES LYMPHOCYTES EN CULTURES MIXTES

ROLE EVENTUEL DE CES HORMONES DANS LES PROCESSUS IMMUNITAIRES DE LA GROSSESSE

Président de la thèse : Monsieur Paul MORIN, Professeur.

Travail effectué au Laboratoire de Physiologie Obstétricale
U.E.R. Lariboisière-Saint-Louis

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur Paul MORIN, qui m'a inspiré le sujet de cette thèse et m'a fait le grand honneur de la présider.

Qu'il en trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

A mes camarades de laboratoire

Madame le Docteur COQUOIN-CARNOT
Monsieur le Professeur Ph. ENGELMANN
Madame Françoise ENGELMANN
Madame le Docteur D. ALCALAY
et
Madame Marie-Josèphe SYLVANIELO
Mademoiselle Anne-Marie DENOYELLE

en toute amitié.

P L A N

1 - INTRODUCTION

2 - TRAVAUX PERSONNELS

2.1. Hypothèse de départ.
2.2. Culture mixte de lymphocytes.
2.3. Hormones placentaires polypeptidiques HCG et HCS.
2.4. Matériel et technique.
2.4.1. Préparation des lymphocytes.
2.4.1.1. Séparation et purification.
2.4.1.2. Lavage et resuspension en milieu final.
2.4.2. Préparation des cultures lymphocytaires mixtes.
2.4.3. Préparation des solutions de l'HCG et l'HCS.
2.4.4. Incubation et marquage par la thymidine tritiée.
2.4.5. Précipitation et comptage.
2.5. Résultats.
2.5.1. Transformation lymphoblastique des cultures mixtes de lymphocytes en présence de l'HCG.
2.5.6. Transformation lymphoblastique des LMC en présence de l'HCS.
2.6. Discussion.
2.6.1. Rôle éventuel d'HCG et d'HCS dans les processus immunologiques de la grossesse.
2.6.2. Recherches effectuées antérieurement sur l'activité immunologique d'HCG et d'HCS.
2.6.3. Comparaison des résultats des expériences antérieures avec les résultats de notre expérimentation.

3 - JUSTIFICATION THEORIQUE DE NOTRE ETUDE

3.1. Modifications de la réactivité des lymphocytes de la femme enceinte, étudiées in vitro par le test de transformation lymphoblastique
3.2. Rôle des anticorps facilitants dans la tolérance immunologique de la grossesse.
3.3. Effet du sérum et des facteurs sériques sur l'immunité de la femme enceinte.
3.3.1. Effet du sérum de la femme enceinte sur la transformation lymphoblastique.
3.3.2. Role des glycoprotéïnes plasmatiques et placentaires dans la modulation de la réponse immunitaire pendant la grossesse.
3.3.3. Rôle des hormones dans les phénomènes immunologiques au cours de la grossesse.

4 - CONCLUSION

5 - BIBLIOGRAPHIE

P L A N

I - INTRODUCTION

L'immunologie de la grossesse suscite un nombre considérable de travaux. Ce n'est pas étonnant si on considère d'une part son originalité, car elle représente un phénomène immunologique unique et d'autre part ses liens avec deux phénomènes biologiques très étudiés à l'heure actuelle : la greffe d'organes et les tumeurs malignes.

La progression du nombre d'études consacrées chaque année aux phénomènes immunologiques de la grossesse indique bien l'intérêt qu'on porte à ces problèmes, mais aussi l'ignorance où l'on est encore.

Cependant plusieurs voies d'investigations se sont précisées pendant les dernières années : recherche des fonctions du trophoblaste dans la modification des réactions immunitaires au niveau de l'utérus ; étude du rôle des anticorps facilitant dans les réactions immunologiques entre la mère et le foetus ; exploration de la réactivité des lymphocytes maternels et les facteurs humoraux qui peuvent l'influencer.

C'est cette dernière voie que nous avons choisie, projetant de mettre en évidence le rôle des hormones polypeptidiques placentaires HCG et HCS, dans les modifications de l'immunité cellulaire de la femme enceinte.

Pour notre étude nous avons fait appel au test de transformation blastique des cultures mixtes de lymphocytes, qui à l'heure actuelle est reconnu comme un modèle fidèle de l'immunité cellulaire in vitro. Nous avons apporté aux cultures mixtes des concentrations d'HCG et d'HCS différentes et nous avons comparé les résultats à ceux obtenus avec les cultures mixtes témoins.

Après un exposé de la technique et des données des expériences, nous discutons nos résultats et nous les comparons avec les résultats obtenus par d'autres auteurs.

./.

Ensuite, nous ferons un rappel des études et des hypothèses sur certains problèmes d'immunologie de la grossesse en détaillant celles qui d'une manière directe ou indirecte éclairent des phénomènes liés à nos expériences.

Nous conclurons par quelques réflexions concernant nos résultats et la voie que nous comptons suivre dans l'avenir.

*

* *

2 - T R A V A U X P E R S O N N E L S

2.I HYPOTHESE DE DEPART

Notre hypothèse de départ est que les hormones placentaires polypeptidiques HCG et HCS, parmi de nombreux autres facteurs, peuvent jouer un rôle dans la prévention du rejet du foetus par la mère, en intervenant dans les processus immunologiques au niveau du trophoblaste.

En effet si une telle action existe, elle devrait s'exprimer surtout au niveau des cellules trophoblastiques qui secrètent les hormones et qui sont le lieu des interactions immunitaires foeto-maternelles les plus intenses.

L'expérimentation que nous avons réalisée a pour but la confirmation éventuelle d'une telle hypothèse.

2.2 CULTURE MIXTE DE LYMPHOCYTES

En 1964, F. BACH indique que, quand on cultive ensemble des lymphocytes provenant de deux individus différents, le pourcentage de lymphocytes qui se transforment en éléments d'allure blastique est d'autant plus élevé que la compatibilité tissulaire des individus est plus faible.

Le test de la culture mixte de lymphocytes (LMC) peut être réalisé, soit avec les populations lymphocytaires intactes de deux sujets (test bi-directionnel), soit après traitement des lymphocytes provenant d'un des deux sujets par la mitomycine ou l'irradiation, qui supprimeraient la possibilité de transformation de ces lymphocytes sans leur enlever les propriétés antigéniques (test unidirectionnel).

La culture mixte de lymphocytes se lit classiquement au 5e, 6e, au 7e jour, car les auteurs s'accordent à considérer que le maximum de transformation est observé à ce moment-là.

La lecture peut se faire de deux façons : La première consiste à étaler et à colorer les cellules, puis à compter au

./.

microscope le pourcentage de lymphocytes transformés en cellules d'allure blastique et les cellules en mitose. La seconde méthode, aujourd'hui très répandue, consiste à mesurer l'incorporation cellulaire de thymidine marquée au tritium.

La culture mixte de lymphocytes est un moyen d'exploration globale de l'histo-compatibilité, tenant compte des antigènes HL-A, mais probablement aussi de la réactivité des cellules immunocompétantes en présence d'une situation immunologique donnée.

En supposant que la grossesse crée une situation immunologique particulière, les LMC peuvent être utilisées dans le but d'étudier la réactivité des lymphocytes maternels.

Les LMC peuvent être utilisées aussi afin d'évaluer l'effet d'une substance donnée sur la réactivité des lymphocytes et sur leur capacité de stimuler ou de répondre aux antigènes d'histocompatibilité.

Nous avons pratiqué le test de cultures mixtes de lymphocytes dans le but d'étudier l'interférence entre les hormones placentaires polypeptidiques HCG et HCS et la réaction blastogénique des cellules immunocompétentes.

2.3 HORMONES PLACENTAIRES POLYPEPTIDIQUES HCG ET HCS

La gonadotrophine chorionique humaine ou HCG est d'origine placentaire. Elle n'est trouvée dans les urines ou dans le sang que lorsque le tissu chorial est présent dans l'organisme. Elle est donc particulière à la grossesse et aux tumeurs dérivant du trophoblaste.

L'HCG possède une activité très voisine de LH. C'est une glycoprotéine de poids moléculaire 30 000. La chaine protéïque comporte 17 amino-acides auxquels sont liées des substances glucidiques, telles que hexoses et 6-désoxyhexoses, hexosamines, acide sialique. La molécule HCG est soluble dans l'eau et possède des propriétés antigéniques, liées à la présence des glucides.

L'HCG est synthétisée essentiellement par les cellules de syncytiotrophoblaste. Elle est mise en évidence au niveau de

de ces cellules par la technique d'immunofluorescence en utilisant des immuno-sérums anti-HCG

L'HCG est détectée dans le sang et dans les urines dès l'implantation du blastocyste.Sa concentration augmente pour atteindre un maximum vers le 60-80e jour de la gestation (la secrétion urinaire est située entre 35000 ET 50000 UI).

Pendant le 2e et 3e trimestre l'élimination urinaire est basse, située entre 17 500 et 3 500 UI.

En ce qui concerne les concentrations d'HCG dans le tissu placentaire, DICZFALUSY (1953) est le premier à avoir fait des dosages aux différents âges de la gestation. Les résultats exprimés en UI par gramme de tissu placentaire montrent une concentration d'HCG très importante en cours du troisième mois de la grossesse : 650 UI/gr de tissu. Ensuite, la concentration diminue rapidement pour atteindre des valeurs presque constantes autour de 25 UI par gramme au cours du 2e et du 3e trimestre.

BRUNER (1951) trouve que la concentration d'HCG est plus élevée dans le placenta que dans le sang maternel. Il montre également une concentration plus importante dans le sang et les caduques maternels que dans les autres tissus de la gestante. Par contre le foetus ne renferme qu'une quantité minime, sinon nulle, d'HCG.L'auteur en conclue que l'hormone est secrétée par le tissu chorial vers la circulation maternelle.

L'hormone chorionique somatomammotrophique (HCS) connue initialement comme human placental lactogène (HPL) est secrétée aussi par le syncytiotrophoblaste placentaire.

C'est un polypeptide de poids moléculaire 24 500 (ALOJ et EDELHOCH, 1971). Elle présente des analogies immunologiques avec l'hormone de croissance humaine (HGH) qui ont permis sa mise en évidence. Ses propriétés sont multiples - luteotrope, lactogénique, somatotrope.

L'HCS est isolée et purifiée à partir du placenta humain et les préparations purifiées ont permis la mise au point d'un système de dosage immuno-spécifique.

L'HCS est trouvée dans le sang maternel à partir de la 4e semaine de la grossesse. Sa concentration augmente en fonction de l'âge de la gestation, atteignant son maximum à la fin du dernier trimestre : 7,4 ± 2,6 µg/ml (HUBERT et al., 1972).

La production quotidienne d'HCS est de l'ordre de 1 µg/24 heures (HUBERT et al.). Les mêmes auteurs ont trouvé des valeurs considérables dans le liquide des perfusions in vitro du placenta à terme du côté maternel. "En une heure d'expérience la production d'HCS est de 50 mg en moyenne, alors que dans le liquide des perfusions du côté foetal, la quantité d'HCS est de 70 µg seulement".

On peut supposer que la concentration de l'HCG et l'HCS est très élevéeau lieu de leur production et leur secrétion, c'est-à-dire la surface maternelle des cellules trophoblastiques où surviennent notamment les réactions immunologiques entre le foetus et la mère.

Il est probable qu'à ce niveau l'HCG et l'HCS modifient la réactivité des lymphocytes maternels et interviennent dans le mécanisme complexe de la prévention du rejet des foetus.

2.4. MATERIEL ET TECHNIQUE

Pour notre étude nous avons utilisé une modification de la technique de cultures mixtes de lymphocytes (LMC) décrite par BACH (1964). Les LMC étaient faites avec des lymphocytes intactes (test bidirectionnel) du sang de deux donneurs, hommes ou femmes non enceintes, pris au hasard. En appliquant ce test nous avons étudié les modifications de la transformation blastique des lymphocytes normaux mis en présence des hormones placentaires HCG et HCS. Le degré de la transformation blastique était mesuré par marquage à la thymidine tritiée et comptage dans un spectrophotomètre à scintillation liquide.

2.4.1. PREPARATION DES LYMPHOCYTES

30 à 40 ml de sang de la veine cubitale sont soit prélevés à l'aide d'une seringue à usage unique, soit prélevés et mis directement dans des flacons stériles à l'aide d'une aiguille à plateau. Comme anticoagulant, nous avons utilisé de l'héparine (liquemine Roche) à raison de 30 unités par ml de sang.

2.4.1.1. SEPARATION ET PURIFICATION DES LYMPHOCYTES

Le sang est centrigué dans des tubes en plastique, à 350 g pendant 15 minutes (nous avons utilisé du sang non dilué ou du sang dilué ou demi dans du sérum physiologique ; nous avons obtenu un meilleur rendement avec le sang dilué). Ensuite le buffy coat et le centimètre supérieur de la couche de plasma sont recueillis à l'aide d'une pipette Pasteur, transférés dans un autre tube, dilués de moitié avec le milieu 199 + Hepes et bien remis en suspension (100 ml de milieu 199 de l'Institut Pasteur sont mélangés extemporanément avec 4 ml d'Hepes N-2 hydroxy-éthylpiperazine N-2 éthan sulfomic acid).

Pour la purification des lymphocytes nous avons utilisé la solution de Ficoll-Angiocontrix en proportion de 1 volume pour 3 volumes de suspension cellulaire : dans les tubes en plastique de 50 ml, 30 ml de suspension cellulaire sont disposés sur 10 ml de Ficoll-Angiocontrix. Les suspensions cellulaires disposées sur le Ficoll-Angiocontrix sont centrifugées pendant 20 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée à 14° - 16°.

Préparation du mélange Ficoll-Angiocontrix : 125 ml de Ficoll (Upsala-Sweden - Pharmatia Fine Chemicals A B) à 9 % sont mélangés avec 20 ml d'Angiocontrix (Laboratoire Gerbet) à 80 % et 32,4 ml d'eau distillée. La solution est mise sur la plaque vibrante pendant une heure et n'est utilisée que le lendemain de la préparation et pendant 3 à 4 semaines.

2.4.1.2. LAVAGE ET RESUSPENSION EN MILIEU FINAL

Après centrifugation, les monocytes sont recueillis à l'interphase à l'aide d'une pipette Pasteur et mis dans des

tubes coniques de 35 ml. La suspension cellulaire est diluée de moitié, ou du tiers avec du milieu 199 + Hepes et centrifugée à 300 g pendant 10 minutes. Ensuite on effectue encore deux lavages, dans le même milieu avec centrifugation à 300 g pendant 10 minutes. Après les trois lavages le culot cellulaire est remis en suspension dans 2 ml du milieu final RPMI 1460 (Flobio). Le comptage des lymphocytes est effectué dans la cellule de Malassez(Le rendement des lymphocytes d'un ml de sang dans les conditions de notre expérience varient entre 500 000 et 1 000 000). Ensuite le nombre des lymphocytes de chacun de des deux donneurs est ajusté à 0,5 10^{-6} par ml. La suspension finale est faite dans le milieu RPMI 1640 auquel est ajouté 20 % de sérum et de gentalline 0,04 mg par ml de culture (nous avons utilisé du sérum A B d'hommes non transfusés.Le sérum était décomplémenté à 56° pendant 30 minutes, centrifugé deux fois à grande vitesse et conservé à - 20°.

2.4.2. PREPARATION DES CULTURES MIXTES

Les suspensions cellulaires des deux donneurs sont distribuées dans des tubes à culture (Nuclon 14 x 100), chacun contenant 1 ml de suspension à 0,5 10^{-6} lymphocytes des deux populations. En définitive, un tube de culture mixte contenait 10^{-6} de lymphocytes (0,5 10^{-6} de chaque donneur) dans un volume de 2 ml.

Nous avons fait trois tubes de cultures identiques pour les témoins et pour chaque concentration des deux hormones testées.

2.4.3. PREPARATION DES SOLUTIONS DE L'HCG ET DE L'HCS

Nous avons utilisé de l'HCS (Human placental lactogen - assay 95 per cent - Nutritional Biochemicals Corporation - Cleveland Ohio. 44 128 USA) en poudre lyophylisée. L'hormone est diluée dans le milieu RPMI au début de chaque expérience

./.

et distribuée dans les tubes de culture à l'aide d'une seringue Hamilton.

Pour l'HCG nous avons procédé de la même manière en utilisant des ampoules contenant 5 000 UI de l'hormone (gonadotrophine chorionique ISH).

2.4.4. INCUBATION ET MARQUAGE PAR LA THYMIDINE TRITIEE *

Les cultures lymphocytaires sont incubées pendant 96 heures dans une étuve à 37°, saturée en humidité et dans une atmosphère de 5 % CO2 pour 95 % d'air.

La thimidine tritiée est ajoutée à la 96e heure : dans chaque tube de culture nous avons ajouté 2 μC du H^3 thymidine (1 μC par ml).

Les cultures marquées sont placées à nouveau dans l'étuve, dans les mêmes conditions qu'avant le marquage. L'arrêt de l'incorporation est fait au bout de 16 heures par refroidissement à 4° pendant 30 minutes.

2.4.5. PRECIPITATION ET COMPTAGE

Les cultures lymphocytaires sont recueillies sur des filtres Whatmann à l'aide d'un système de fioles sous vide. Chaque culture est versée dans une fiole à vide sur le filtre, lavée trois fois avec du sérum physiologique, précipitée par une solution d'acide trichloracitique à 5 % et fixée par le Méthanol.

Ensuite les filtres sont placés dans des flacons de comptage et séchés pendant une heure dans une étuve à 60°.

Après le séchage, 10 ml de solution scintillante sont ajoutés dans chaque flacon de comptage (la solution scintillante contient 5 gr de PPO et 0,3 gr de POPOP dissous dans 1 litre de toluène).

* Thymidine 3-N-6, TMM. 48 A, activité specifique 1 ci/mM, Service des Molécules Marquées ; CEA - France.

Le comptage est fait après refroidissement à 4° pendant 30 minutes, dans un spectrophotomètre à scintillation liquide.

Les résultats du comptage sont exprimés en coups par minute (cpm).

La moyenne des cpm des trois cultures identiques de contrôle est comparée à la moyenne des cpm des trois cultures identiques pour chacune des concentrations des hormones testées et le résultat est exprimé en pourcentage

$$\frac{\text{moyenne des cpm de LMC contenant l'HCG ou l'HCS}}{\text{moyenne des cpm de LMC de contrôle}} \times 100$$

2.5. RESULTATS

2.5.1. TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES DE LYMPHOCYTES EN PRESENCE D'HCG

Nous avons utilisé des concentrations d'HCG progressivement croissantes de 20 à 1 000 UI par millilitre de culture lymphocytaire et testé l'action de ces différentes concentrations sur 43 cultures mixtes de lymphocytes en comparant la moyenne de la transformation blastique de trois cultures identiques par une concentration donnée avec la moyenne de la transformation de trois cultures témoins.

Dans les conditions expérimentales choisies, les résultats montrent que la transformation lymphoblastique des cultures mixtes de lymphocytes est inhibée par la présence de l'HCG. (cf. tableaux pages 22, 23).

Cette inhibition apparaît dans tous les cas et elle est assez importante avec des concentrations d'HCG élevées de 500 UI et 1000 UI par ml. de culture. En effet, toutes les cultures mixtes, sur lesquelles nous avons testé l'hormone avec ces deux concentrations, ont été inhibées. La transformation lymphoblastique exprimée en pourcentage par rapport à la trans-

./.

formation des cultures mixtes témoins, varie de 31 à 80 %.

Nous avons testé des concentrations moins élevées d'HCG - 125 et 250 UI par ml. de suspension cellulaire, sur 18 cultures lymphocytaires mixtes. Dans la plupart des cas nous avons observé une baisse de la transformation blastique : 13 cultures présentent une transformation de 38 % à 87 %, par rapport à celle des cultures témoins, la moyenne étant de 78 % pour la concentration de 125 UI et 81,4 % pour la concentration de 250 UI par ml. de culture. Dans 4 cas la réactivité cellulaire n'est pas influencée : transformation blastique par rapport aux témoins entre 96 % et 102 %. Une culture présente une transformation au-dessus de la transformation des cultures témoins.

Une inhibition nette et assez constante apparaît dans les LMC pour la concentration de 40 UI/ml. En présence de cette concentration relativement faible, huit cultures sur neuf présentent une transformation blastique de 54 % à 78 %, par rapport à la transformation des cultures mixtes témoins. En outre, les résultats sont bien groupés autour d'une moyenne de transformation de 70 % de la transformation témoin.*

Enfin, le nombre des cultures (4) mises en présence de 20 UI d'HCG par ml. de suspension cellulaire, est trop faible et les résultats sont trop dispersés pour que nous puissions en tirer une conclusion.

Nous pouvons donc conclure qu'il y a indéniablement une relation entre l'inhibition de la transformation lymphoblastique et la concentration de l'HCG. Ces relations apparaissent plus nettement sur la courbe de variation de l'inhibition en fonction des concentrations d'HCG. (cf. graphique page 24).

On peut distinguer trois zones sur cette courbe :

- Une zone aux faibles concentrations, c'est-à-dire aux alentours de 40 UI d'HCG par ml., pour laquelle apparaît une assez forte inhibition (30 %). L'effet inhibiteur est d'autant plus significatif que, comme nous l'avons déjà signalé, la dispersion des résultats obtenus est relativement faible.

* Nous rappelons que l'expérience de JENKINS confirme cette inhibition par l'HCG pour des concentrations du même ordre de grandeur.

/.

- Une zone correspondant aux concentrations de 125 UI et de 250 UI d'HCG par ml., présentant un effet inhibiteur relativement plus faible, et des résultats plus dispersés.

- Une troisième zone pour les concentrations de 500 U et 1000 U, où l'inhibition est la plus importante et la plus certaine. Pour la dose de 500 U/ml d'HCG la dispersion des résultats obtenus est la plus faible que nous ayons eue.

2.5.2. TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES EN PRESENCE D'HCS

Pour l'étude de l'effet d'HCS nous avons suivi le même procédé que celui pour tester l'effet d'HCG.

Nous avons étudié l'action de l'hormone sur la transformation blastique de 38 cultures lymphocytaires mixtes, en utilisant des doses croissantes de 8,5 µg à 100 µg par ml. de suspension cellulaire. Nous avons comparé la moyenne de transformation lymphoblastique de trois cultures mixtes pour chaque dose, avec la moyenne de transformation des trois cultures mixtes témoins.

Il est à remarquer d'emblée la très grande dispersion des résultats, ainsi que la plus grande incertitude par rapport aux résultats obtenus avec l'HCG, quant à l'effet inhibiteur de l'HCS. (cf. tableaux pages 25, 26).

Il y a donc peu de possibilités de donner une interprétation de ces expériences.

Cependant si on se base sur la moyenne de transformation lymphoblastique pour les différentes concentrations on peut remarquer :

- Un effet inhibiteur aux faibles concentrations avec une action plus marquée pour la concentration de 16 µg d'HCS par ml. de suspension cellulaire.

- Peu d'effet pour des concentrations moyennes de 25 µg et 50 µg d'HCS par ml. Pour 25 µg /ml. les résultats

./.

donnent sur la courbe la plus faible dispersion des points que nous ayons obtenu dans cette expérimentation.

- Une inhibition à peu près certaine pour la concentration d'HCS à 100 µg par ml. de cultures, puisque un seul résultat sur 8 est négatif.

Nous serions donc tentés de trouver une certaine ressemblance entre les courbes d'action d'HCS et HCG. (cf. page 27)

- Inhibition de la transformation lymphoblastique des cultures mixtes de lymphocytes à de faibles concentrations.

- Inhibition moins importante pour des concentrations moyennes.

- Inhibition plus marquée et plus certaine à forte concentration de l'hormone.

Notre remarque est cependant avancée avec réserve, à cause de la grande dispersion des résultats et l'inhibition moins importante avec HCS qu'avec l'HCG.

D'autre part, nous pouvons penser également que l'inhibition est linéaire et augmente avec la concentration de l'HCS. En effet, tous les points de la courbe moyenne sont pratiquement alignés sur une même droite, en coordonés cartésiennes, sauf le point correspondant à la concentration de 16 µg /ml d'HCS.

2.6. DISCUSSION

2.6.1. ROLE EVENTUEL D'HCG ET D'HCS DANS LES PROCESSUS IMMUNOLOGIQUES DE LA GROSSESSE

Nous avons essayé de démontrer l'action des hormones placentaires polypeptidiques HCG et HCS sur la transformation lymphoblastique des cultures mixtes de lymphocytes (LMC) considérée comme étant "une représentation fidèle in vitro de la réponse d'histocompatibilité allant de la phase de reconnaissance à la phase d'activation des cellules effectrices" (Ceppellini).

Les résultats que nous avons obtenus prouvent que l'HCG et l'HCS inhibent la transformation lymphoblastique des LMC, quand elles sont utilisées à des doses identiques ou supérieures à celles du sang chez la femme enceinte.

On peut penser que l'HCG et l'HCS exercent le même effet immunosuppresseur in vivo, au niveau du trophoblaste où se réalise le contact entre le sang maternel et les cellules foetales.

On peut supposer qu'à ce niveau les deux hormones se trouvent en concentrations plus élevées que dans le sang et participent à une "barrière hormonale locale" (KAYE) qui influence l'activité immunologique maternelle.

Il est possible que l'HCG qui est secrétée dès l'implantation de l'oeuf, exerce une action particulière au début de la grossesse, quand les autres mécanismes immunologiques ne sont pas encore développés. L'effet immunosuppresseur peut être encore plus marqué pendant le pic de secrétion de la 8e à la 11e semaine, quand l'HCG est probablement présente au niveau de trophoblaste à des concentrations très importantes qui pourraient "inhiber le système immunologique maternel duquel dépend la reconnaissance des antigènes étrangers" (JENKINS). Un tel rôle peut être particulièrement important pour la protection du foetus à la fin du premier trimestre.

Quant à l'hormone chorionique somatomammotrophique (HCS) elle est synthétisée par le syncytiotrophoblaste à partir de la 4e semaine, et augmentant rapidement, elle atteint son taux maximum à la 36e - 37e semaine. Elle subit une baisse importante avant l'accouchement ou avant les avortements spontanés.

A la suite de notre expérience on peut supposer que l'HCS agit sur la réponse immunitaire au niveau du trophoblaste de la femme enceinte pendant les stades plus avancés de la grossesse. Certains auteurs avancent même l'hypothèse (CONTRACTOR et al.) que la baisse de la synthèse d'HCS pourrait

déclencher l'accouchement par un processus de rejet immunologique, et par un mécanisme analogue, être aussi la cause de certains avortements spontanés. Pour notre part, il nous semble impossible de discerner si l'effondrement du taux de l'HCS peut être considéré comme la cause, ou la conséquence des processus qui déclenchent l'accouchement et certains avortements présumés immunologiques.

Sur un plan plus général, on peut avancer l'hypothèse que les hormones placentaires participent à un mécanisme régulateur qui modifie la réactivité immunologique pendant la grossesse, en stimulant la réponse immune humorale (FABRIS) et en diminuant la réponse immune à médiation cellulaire, directement et par l'intermédiaire de l'augmentation de production des anticorps facilitants.

En ce qui concerne nos expériences nous devons faire remarquer :

- Qu'il s'agit des résultats préliminaires et qu'un nombre plus important d'essais avec une gamme plus détaillée de concentrations hormonales est nécessaire, pour pouvoir tirer des conclusions plus certaines.

- Qu'il s'agit des résultats obtenus in vitro et par conséquent la transposition de ces résultats in vivo doit être faite avec les plus grandes réserves.

2.6.2. RECHERCHES EFFECTUEES ANTERIEUREMENT SUR L'ACTIVITE IMMUNOLOGIQUE D'HCG ET D'HCS

A notre connaissance trois équipes de chercheurs ont abordé le problème de l'activité immunologique des hormones placentaires polypeptidiques HCG et HCS. Ils ont étudié in vitro leur effet sur la transformation blastique des lymphocytes en cultures stimulées par le PHA ou en cultures mixtes de lymphocytes.

./.

Deux études sont consacrées à la gonadotrophine chorionique humaine (KAYE, JENKINS) et une étude porte sur l'activité immunologique de l'HCG et l'HCS, (CONTRACTOR).

La première expérience, celle de KAYE M.B. et JONES (1971) a pour but d'étudier l'effet de l'HCG sur la transformation blastique des lymphocytes normaux d'hommes adultes, les cultures lymphocytaires étant stimulées par la PHA. L'hormone est ajoutée en même temps que le mitogène et en une seule concentration de 30 UI par ml. de culture. Les résultats de cette expérience montrent que la transformation lymphoblastique en présence de l'HCG est nettement déprimée (33,4 %) si on la compare à la transformation des cultures avec la PHA seule (50,8 %).

La comparaison de l'effet de l'HCG biologiquement active et l'HCG inactivée constitue un point intéressant de l'expérience de KAYE et JONES : l'HCG inactivée ne modifie pas la réponse des lymphocytes stimulés par la PHA, contrairement à l'HCG active qui l'inhibe considérablement (l'hormone chauffée à 60° pendant 30 minutes perd son activité biologique - test Ascheim Zouden négatif - mais préserve son intégrité antigénique, mesurée par les tests immunologiques).

KAYE et JONES considèrent que leur étude "prouve une action immunologique évidente de l'HCG sur les lymphocytes normaux. Cette activité se révèle avec une concentration de 30 UI par ml. de culture, correspondant aux taux moyens de l'hormone dans le sang au cours de la grossesse normale, après l'effondrement du pic du premier trimestre". L'activité immunologique de l'HCG, d'après les auteurs, n'est pas dissociée de son activité biologique.

Dans l'expérience de S. CONTRACTOR et H. DAVIES (1973) l'HCG est étudiée parallèlement avec l'HCS. Les deux hormones sont administrées dans des cultures de lymphocytes du sang périphérique, stimulées par la PHA. Leur effet sur la transformation blastique est mesurée par marquage à la thimidine

./.

tritiée et comptage dans un spectromètre à scintillation liquide. L'HCG est ajoutée à des doses croissantes de 6,25 à 50 µg par ml. de culture (1 mg = 10 000 U). L'HCS est administrée à des doses croissantes de 12,25 à 100 µg par ml. de culture.

Pour déterminer les interactions possibles entre le mitogène (PHA) et les hormones (HCG et HCS), CONTRACTOR et DAVIS effectuent trois séries de cultures à chaque expérience : une avec la PHA et des hormones administrées simultanément, une avec les hormones mises un jour avant la PHA et une troisième avec la PHA seule (cultures témoins).

Il ressort de cette expérience que dans tous les cas la transformation lymphoblastique est inhibée et que cette inhibition est beaucoup plus importante quand les lymphocytes sont incubés pendant 24 heures avec les hormones, avant d'être stimulés par la PHA. Cette observation fait supposer que l'effet des hormones sur la transformation lymphoblastique n'est pas dû à la formation d'un complexe avec la PHA, mais plutôt que "les hormones se fixent sur les sites stimulés par la PHA et rentrent de cette manière en compétition avec le mitogène".

D. JENKINS et al. (1972) étudient l'effet de l'HCG sur la transformation blastique des cultures lymphocytaires mixtes bidirectionnelles (donc stimulées par les antigènes d'histocompatibilité). L'HCG est administrée dans les LMC à des doses croissantes de 10 à 400 UI par ml. de culture. La réactivité des LMC est estimée par la mesure de la thymidine tritiée, incorporée dans les lymphocytes transformés. Les résultats sont exprimés par l'index de transformation qui représente le rapport de la réactivité de chaque culture mixte et la la somme de la réactivité des cultures simples, non stimulées.

Pour JENKINS et al., les résultats de leur expérience montrent "clairement une petite suppression de la réactivité des cultures mixtes pour des concentrations faibles de [illegible] et 30 UI par ml. de culture. Par contre les concentrations plus importantes de l'ordre de 150 ou plus provoquent une diminution de la réactivité dans toutes les cultures".

./.

Les auteurs ont administré des doses croissantes jusqu'à 400 UI de l'HCG à des cultures lymphocytaires simples, non stimulées. Dans ces cultures ils n'ont trouvé aucun changement de la transformation lymphoblastique spontanée. Cette observation montre que l'activité de l'HCG est dirigée contre la stimulation par des antigènes d'histocompatibilité des deux populations lymphocytaires.

Dans les expériences citées, l'étude de l'effet immunosuppresseur des hormones HCG et HCS est faite avec deux types d'expériences différentes. L'effet inhibiteur est recherché dans les cultures de lymphocytes stimulés par la PHA (KAYE et JONES, CONTRACTOR et DAVIES)ou dans des cultures mixtes de lymphocytes.

Dans le test de stimulation lymphoblastique par la PHA, les hormones révèlent leur action suppressive quand elles sont administrées aux concentrations relativement faibles (30 UI/ml d'HCG dans l'expérience de KAYE, 60 UI d'HCG par ml. et 7,5 μg d'HCS par ml. dans l'expérience de CONTRACTOR).

D'autre part, dans ce type d'expérience, il existe des relations linéaires entre l'augmentation de la concentration d'hormones et l'accroissement de leur effet dépresseur (expérience de CONTRACTOR).

On admet en général que la réponse des lymphocytes à la PHA reflète leur compétence immunologique ; nous pourrons considérer donc que l'HCG et l'HCS diminuent la transformation induite par la PHA, en agissant sur cette compétence.

Quant aux résultats de l'expérience qui traite de l'effet de l'HCG sur la transformation lymphoblastique des cultures mixtes de lymphocytes, nous en reparlerons de façon plus détaillée dans les pages qui suivent.

P.6.3. COMPARAISON DES RESULTATS DES EXPERIENCES ANTERIEURES AVEC LES RESULTATS DE NOTRE EXPERIMENTATION

Les résultats de notre expérience sont comparables

aux résultats de l'expérience de JENKINS qui est le seul à utiliser des cultures mixtes de lymphocytes pour tester l'effet de l'HCG sur la transformation lymphoblastique.

Dans les deux expériences les faibles concentrations d'HCG (10 UI et 20 UI dans l'expérience de JENKINS et 20 UI dans notre expérience) sont sans effet sur la transformation lymphoblastique.

Les concentrations importantes d'HCG (400 UI par ml. dans l'expérience de JENKINS et 500 UI et 1000 UI par ml. dans notre expérience) sont inhibitrices dans tous les cas.

Les concentrations intermédiaires entre 20 UI et 250 UI par ml. donnent des résultats plus difficilement interprétables. Un point commun ressort cependant : c'est l'inhibition de la transformation lymphoblastique avec des doses d'HCG relativement faibles de 30 et 40 UI/ml. de culture.

Dans l'état actuel de nos connaissances il nous est impossible de donner une explication à ce phénomène. Il nous semble tout de même intéressant d'étudier l'effet inhibiteur d'une gamme plus importante des doses entre 40 et 250 UI.

En ce qui concerne les résultats de notre expérimentation avec l'HCS, nous nous retiendrons de les comparer avec les résultats de CONTRACTOR et DAVIESqui ont aussi étudié l'effet immunosuppresseur de cette hormone, mais dans des conditions expérimentales différentes. Ils utilisent, comme nous l'avons déjà mentionné, la transformation lymphoblastique induite par la PHA, pour tester l'activité de l'hormone, alors que dans notre expérience la transformation blastique est le résultat de la stimulation mutuelle des deux populations lymphocytaires par leur antigène d'histocompatibilité.

Nous ne connaissons pas de travaux qui expérimentent l'effet de l'HCS sur l'immunité cellulaire in vitro, en utilisant comme test, la transformation des lymphocytes en cultures mixtes.

./.

Le manque d'expérience antérieure et la nature préliminaire de notre expérimentation ne permettent pas de tirer des résultats concluants en ce qui concerne l'effet inhibiteur de l'HCS.

2.6.4. ESSAI D'INTERPRETATION DU MECANISME D'ACTION IMMUNOLOGIQUE DES HORMONES POLYPEPTIDIQUES PLACENTAIRES

Nous ne connaissons pas le mécanisme par lequel les hormones HCG et HCS agiraient sur la réponse immunitaire de la mère.

Une approche de ce problème est rapporté par les expériences de COOPERLAND et al. (1968) et de YACHNIN et al. (1972) sur le mécanisme d'action des fractions d' α globuline sérique.

A la suite d'un travail sur l'effet d'une fraction d' α globuline humaine sur la transformation lymphoblastique, COOPERLAND conclue que cette fraction inhibe la transformation des lymphocytes par un mécanisme de compétition avec le mitogène ou les antigènes, en empêchant leur accès aux sites spécifiques de la membrane lymphocytaire.

Les résultats de CONTRACTOR et DAVIES(1973), que nous avons déjà cités, vont dans le même sens et "indiquent que les hormones sont liées ou rentrent en compétition avec la PHA au niveau des sites de la membrane lymphocytaire".

Le travail de LESNIAK (1973) consacré au dosage radiologique de l'HGH nous semble particulièrement intéressant. Il démontre que I^{125} HGH (Human Growth Hormone) se lie avec les lymphocytes en culture et qu'elle est déplacée par l'HGH non marquée ou l'hormone de structure semblable-l'HCS. D'après l'auteur, il existerait des sites récepteurs sur la membrane lymphocytaire qui lient l'HGH (et respectivement l'HCS). On peut donc supposer que l'HCS en se liant sur ces sites de la membrane lymphocytaire empêche la PHA ou les antigènes de se fixer sur les lymphocytes et d'induire la transformation lymphoblastique.

*
* *

MIXTES DE LYMPHOCYTES

Expérience N°	HCG en UI/ml de suspension cellulaire												
	0	20		40		125		250		500		1000	
	cpm	cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%
1	14 409	9229	69	11099	70	10002	69	12297	85				
2	38 728			20801	54	14633	38	37243	96	31033	80		
3	95 569			67125	70	81928	85	67748	71				
4	17 954	24479	136			18239	102	22204	124	12967	72		
5	47 353			31593	67	40787	86	32895	69	34184	72		
6	49 581			38731	78	40932	82	28510	57	34776	69		
7	81 597			41096	50	49492	61	34694	43	50235	62	25035	31
8	64 073			47800	75	65610	102	55764	87	36673	57	37885	59
9	73 170	57377	78	48617	66			60338	82	46285	63	43960	60
10	52 189	60233	115	51476	98			52363	100	37967	73	41977	80
%moyen de transformation	100		99,5		70		78		81,4		68,5		57,5

POURCENTAGE DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES AVEC HCG PAR RAPPORT AUX CULTURES MIXTES TEMOINS

EXPERIENCE N°	H.C.G. en U.I./ml de suspension cellulaire					
	20	40	125	250	500	1000
1	69	70	69	85		
2		54	38	96	80	
3		70	85	71		
4	136		102	124	72	
5		67	86	69	72	
6		78	82	57	69	
7		50	61	43	62	31
8		75	102	87	57	59
9	78	66		82	63	60
10	115	98		100	73	80
% moyen	99,5	70	78	81,4	68,5	57,5

EFFET DE L'HCG SUR LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES DE LYMPHOCYTES

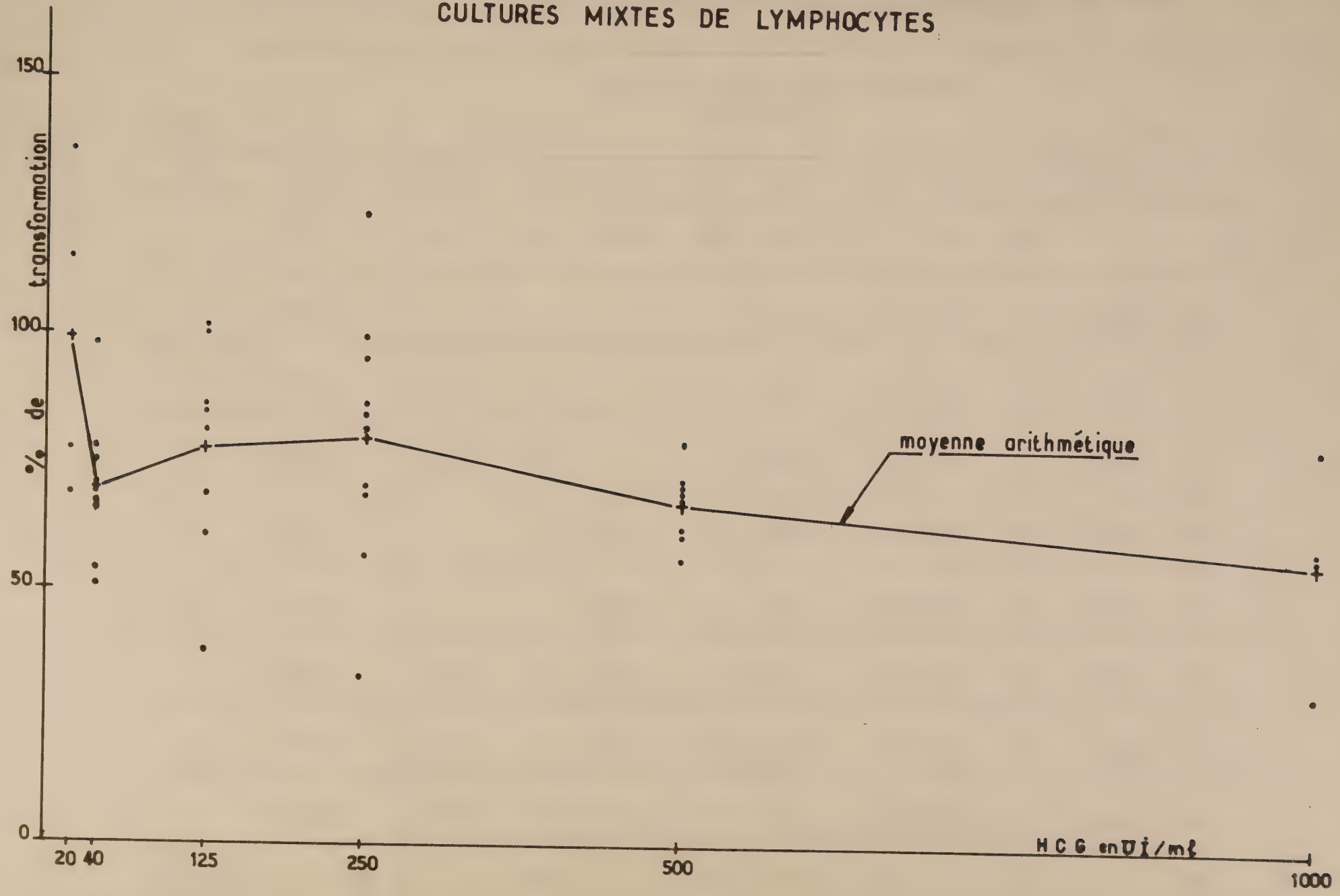


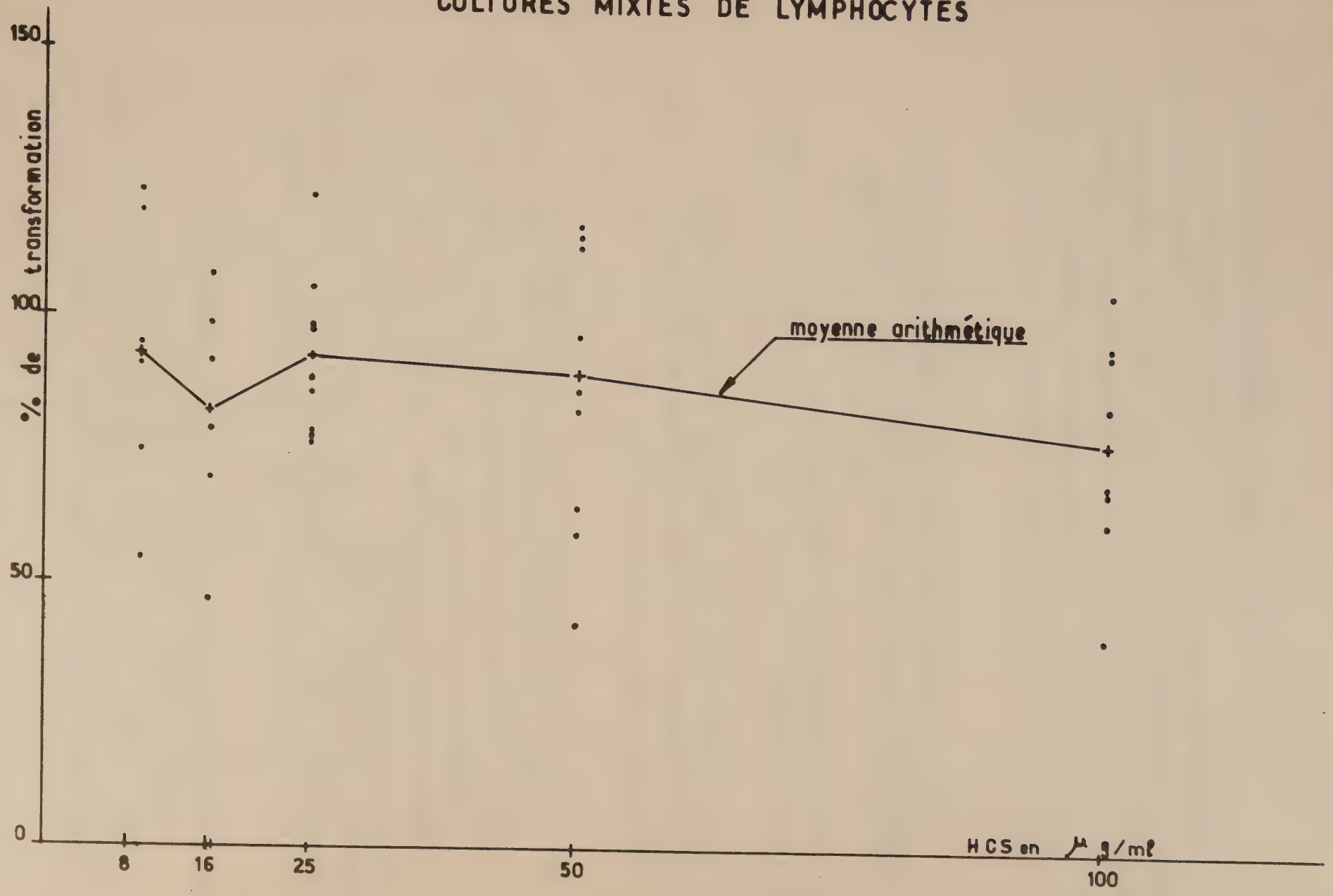
TABLEAU RECAPITULATIF DE L'EFFET DE L'HCS SUR LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES DE LYMPHOCYTES :

Expérience N°	HCS en µg par ml de suspension cellulaire											
	0	8		16		25		50		100		
	cpm	cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%	
1	14600	13657	95	10187	70	12910	89	8671	60			
2	38728					41321	106	44161	114	32888	85	
3	17954	22334	124			15411	86	21290	118	12508	70	
4	47353	26020	55			36842	78	20400	43	19348	41	
5	49581			53334	108	48760	98	48488	97	52461	106	
6	81597			38572	47	62889	77	70620	87	56312	69	
7	64073	58525	91	50443	79	62913	98	41657	65	61450	96	
8	73170	54783	75	67102	92	57619	79	60599	83	46444	63	
9	52189	62566	120	51730	99	64053	123	76382	116	49348	95	
% moyen de transformation	100		93		82,5		93		90		78	

POURCENTAGE DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES DE LYMPHOCYTES AVEC HCS PAR RAPPORT AUX CULTURES MIXTES TEMOINS

Expérience n°	HCS µg/ml de suspension cellulaire				
	8	16	25	50	100
1	95	70	89	60	
2			106	114	85
3	124		86	118	70
4	55		78	43	41
5		108	98	97	106
6		47	77	87	69
7	91	79	98	65	96
8	75	92	79	83	63
9	120	99	123	116	95
% moyen	93	82,5	93	90	78

EFFET DE L'HCS SUR LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE DES CULTURES MIXTES DE LYMPHOCYTES



3. JUSTIFICATION THEORIQUE DE NOTRE ETUDE

Nous allons essayer de rappeler des expériences et des hypothèses, la plupart en cours d'étude, concernant certains problèmes des relations immunitaires entre la mère et le foetus. Ce rappel va nous permettre de dégager quelques notions concernant d'une manière directe ou indirecte le rôle des hormones placentaires dans les processus immunologiques de la grossesse.

3.1. MODIFICATIONS DE LA REACTIVITE DES LYMPHOCYTES DE LA FEMME ENCEINTE, ETUDIEES IN VITRO, PAR LE TEST DE TRANSFORMATION LYMPHORLASTIQUE

La réactivité des lymphocytes de la femme enceinte est étudiée dans une série d'expérience in vitro par le test de transformation lymphoblastique.

Les modifications de cette réactivité reflèteraient l'état de l'immunité cellulaire pendant la grossesse et auraient pu expliquer en partie la tolérance immunologique maternelle vis-à-vis du foetus.

D. ALCALAY et al. ont étudié la transformation blastique des lymphocytes des femmes pendant une grossesse normale. Les cultures lymphocytaires sont stimulées par la phytohémaglutinine (PHA). Les résultats des expériences montrent que la réponse des lymphocytes au mitogène diminue au cours de la grossesse, et que l'abaissement de la transformation lymphoblastique est plus fréquent lors des deux derniers trimestres de la gestation. Les auteurs concluent "qu'il y aurait une relative tolérance immunologique chez la femme enceinte". (MORIN P., 1971).

PUTRILO et al. (1972) dans le même genre d'expérience trouvent que toutes les femmes enceintes testées présentent ure réponse lymphocytaire réduite à la PHA, par rapport aux femmes non enceintes. Les taux de transformation blastique les plus bas sont trouvés chez les femmes dont la grossesse date

./.

de 26 à 31 semaines. Les auteurs considèrent que "la réduction de la réponse des lymphocytes à la PHA pendant la grossesse peut résulter de l'action cumulatrice des anticorps bloquants, des hormones et de certaines protéines plasmatiques".

R. FINN et al. (1972) ont étudié l'immunité cellulaire chez la femme enceinte, in vitro, par le test de la transformation lymphoblastique* et in vivo par le test de l'intradermoréaction à la tuberculine. Les résultats de leurs expériences prouvent que :

- la transformation lymphoblastique des cultures stimulées par la PHA est réduite pendant la grossesse.

- l'intradermoréaction à la tuberculine est déprimée : chez 97 femmes témoins, 27 sont négatives (27,8 %) ; chez 99 femmes enceintes, 43 présentaient une intradermoréaction négative (43,3 %).

Les autres considèrent que ces résultats sont en faveur de l'hypothèse que pendant la grossesse il existe une réduction de l'immunité cellulaire.

J. SMITH et al. (1972) ont étudié la sensibilité des lymphocytes des femmes enceintes aux antigènes spécifiques : dérivés protéïques purifiés des tubercules (PPD) et l'antigène de la rougeole. Dans les conditions de leur expérience, les lymphocytes incubés avec ces antigènes produisent une substance qui ralentit le déplacement des macrophages du cobaye dans un champ électrique (macrophage slowing factor - MSF). En appliquant cette technique les auteurs trouvent que la sensibilité des lymphocytes à la PPD est nettement diminuée et qu'elle revient à la normale pendant les 8 jours de post-partum. La diminution de la réactivité vis-à-vis de l'antigène de la rougeole est moins importante, et elle est liée d'après les auteurs, à une sensibilisation initiale plus faible.

Avec le même système expérimental, SMITH et al. mesurent le LDF (facteur déprimant les lymphocytes). Ils trou-

* Les cultures lymphocytaires sont faites avec du sérum autologue.

vent que son titre augmente nettement pendant la grossesse et qu'il diminue après l'accouchement (son titre étant normal chez la multipare non enceinte. Les auteurs concluent que la diminution de la réactivité des lymphocytes aux antigènes est parallèle à l'augmentation du taux de LDF, et que, "la restitution de leur réactivité après l'accouchement est liée à l'effondrement du taux de LDF".

SMITH et al. avancent l'hypothèse que LDF est un facteur dépresseurnon spécifique qui dans les conditions physiologiques agit sur la réactivité des lymphocytes comme "un mécanisme de freinage de la réponse immunologique à médiation cellulaire et qui peut permettre en même temps un ajustement plus fin de la réponse immunologique cellulaire".

Les auteurs discutent aussi le problème concernant les relations qui existeraient entre la réactivité des lymphocytes et les facteurs plasmatiques : les lymphocytes testés pour leur sensibilité aux antigènes sont préalablement lavés et les nombreux lavages n'augmentent pas leur réactivité. D'après SMITH et al. cette observation montrerait que la dépression n'est pas liée à un facteur qui couvre les cellules, et "qu'on pourrait supposer qu'il existe une déficience intrinsèque de la réponse cellulaire aux antigènes".

Le même problème, mais traité dans des conditions expérimentales différentes, est discuté dans le travail de DuPAN et al. (1974). Dans un premier tempsles auteurs trouvent que la transformation blastique des lymphocytes pendant la grossesse est nettement diminuée par rapport aux témoins et que la transformation des lymphocytes des témoins est très diminuée en présence du sérum des femmes enceintes. Ces deux résultats sont en concordance d'une part avec les travaux (D ALCALAY et al., PATRILO et al., SMITH et al., FINN et al.) que nous venons de citer et d'autre part avec les résultats des expériences (KASAKURA et al., JONES et al. et LEIKIN S.). qui étudient le rôle du sérum des femmes enceintes sur la dimi-

./.

nution de la réponse immunitaire.

Dans un deuxième temps DUPAN et al. ont essayé d'enlever de la surface lymphocytaire le "facteur inhibant" trouvé dans le plasma des femmes enceintes. Ils ont lavé à plusieurs reprises les lymphocytes avec du sérum physiologique ou avec la solution de Hanse. La transformation lymphoblastique stimulée par la PHA restait toujours diminuée. Mais les auteurs ont réussi à supprimer le facteur inhibant, en laissant les lymphocytes en suspension dans la solution de Hank pendant 12 à 14 heures. En effet, après ce traitement, "les lymphocytes des femmes enceintes se transformaient aussi bien que les lymphocytes des adultes témoins".

Pour notre part, il nous semble que l'expérience de DUPAN et al. ne permet pas de conclure si le facteur inhibant est "enlevé" de la membrane lymphocytaire ou secrété par les lymphocytes pendant les 12 heures d'incubation dans le liquide Hank.

E. JONES et P. CURZEN (1973) étudient les réactions immunologiques de la femme enceinte en utilisant comme test in vitro la transformation blastique des cultures lymphocytaires mixtes (LMC). Pour ces cultures les auteurs utilisent des lymphocytes de femmes aux différents stades de la grossesse et ils comparent la transformation lymphoblastique obtenue avec celle des cultures mixtes des lymphocytes des femmes non enceintes. Les résultats de l'expérience de JONES et CURZEN semblent démontrer "que la réactivité des lymphocytes pendant toute la période de la grossesse est réduite d'une façon significative en comparaison de la réactivité des lymphocytes des femmes non enceintes".

Puisque tous les sujets étaient pris au hasard, la différence entre la réactivité des lymphocytes des deux groupes n'est probablement pas dûe à une ressemblance génétique entre les femmes enceintes.

Les auteurs considèrent que les résultats sont en faveur de l'existence d'une inhibition non spécifique de la

./.

réactivité des lymphocytes maternels.

Dans son étude CEPPELLINI et al. (1971) explorent les interactions immunitaires foeto-maternelles par des LMC unidirectionnelles. Le phénomène intéressant, observé par les auteurs, est la capacité des lymphocytes foetaux de stimuler et de répondre aux stimulations antigéniques en cultures mixtes, fait qui montre que l'immunité de transplantation se développe chez l'homme à un stade précoce de l'ontogénèse. La réactivité des lymphocytes du nouveau-né et du foetus est diminuée quand dans des cultures mixtes les lymphocytes maternels sont utilisés comme cellules stimulatrices. En ce qui concerne les lymphocytes maternels, leur réactivité est nettement diminuée vis-à-vis des lymphocytes du père et des personnes non apparentées.

Dans cette expérience les lymphocytes sont lavés avant d'être mis en culture et cela "exclut la responsabilité des facteurs plasmatiques pour l'hyporéactivité observée, qui peut être interprétée comme équivalent à une tolérance partielle in vitro". Les auteurs n'excluent pas la production des anticorps bloquants in vitro par les cellules stimulantes ou répondantes, ou les deux, fait qui serait "en concordance avec les observations de HELSTROM et avec les observations de l'effet inhibiteur du sérum anti HL-A sur les LMC".

La capacité stimulante des lymphocytes maternels est aussi diminuée vis-à-vis des lymphocytes des personnes non apparentées, fait qui peut être interprété d'après les auteurs comme une modulation de l'expression antigénique pendant la grossesse dûe à l'action des hormones ou d'autres facteurs non spécifiques.

D'une manière général, les expériences que nous venons de citer apportent des arguments en faveur d'une diminution de la réactivité des lymphocytes au cours de la grossesse. En effet, la transformation blastique des lymphocytes maternels est diminuée vis-à-vis :

- des dérivés protéïques purifiés dans l'expérience de SMITH.

./.

- des antigènes d'histocompatibilité dans l'expérience de JONES, CEPPELLINI.

- de la PHA dans les expériences de D. ALCALAY (1971), PUTRILO (1972), FINN (1972).

WATKINS ((1972) cependant n'a pas confirmé les résultats de PUTRILO, FINN et ALCALAY. En utilisant une technique différente et des concentrations de PHA très minimes, elle trouve que la réponse lymphoblastique n'est pas diminuée au cours de la grossesse. WATKINS pense que "la différence des résultats reflète peut-être la différence de la sensibilité à l'effet inhibiteur des doses élevées de PHA, plutôt que la différence de la compétence immunologique.

METCALF W.K. et METCALF N.F. (1973) ne trouvent aucune différence significative entre la réponse des lymphocytes de femmes enceintes et des lymphocytes de femmes non enceintes, provenant du sang défibriné et stimulé par la PHA. Par contre, la stimulation est déprimée quand les lymphocytes proviennent du sang hépariné de femmes non enceintes ou d'hommes. D'après les auteurs cette inhibition est dûe aux plaquettes ; elle apparaît moins importante quand le sang hépariné provient de femmes enceintes.

En conclusion, malgré les résultats contradictoires, dûs vraisemblablement à des techniques différentes utilisées, il nous paraît difficile de nier l'existence d'une diminution de la réactivité des lymphocytes pendant la grossesse.

3.2. ROLE DES ANTICORPS BLOQUANTS DANS LA TOLERANCE IMMUNOLOGIQUE DE LA GROSSESSE

HELSTROM et al. (1969) ont démontré que les lymphocytes des souris, porteuses de foetus antigéniquement étrangers inhibent in vitro la croissance des cellules foetales du même type génétique et que le sérum de ces souris gravides peut abolir l'effet des lymphocytes. Il y a une analogie entre cette observation et les résultats de l'expérience des mêmes auteurs

./.

(1968, 1969) avec des cellules tumorales : les lymphocytes des animaux porteurs de tumeurs sont capables d'inhiber la croissance des cellules néoplasiques in vitro, et le sérum de ces mêmes animaux contient souvent des anticorps qui bloquent l'effet des lymphocytes en se liant spécifiquement avec les cellules tumorales.

D'après les auteurs les embryons, antigéniquement différents de la mère ne sont pas altérés, in vivo, par les lymphocytes maternels (capables d'inhiber ces cellules in vitro) puisque le sérum des animaux hôtes "peut protéger les cellules embryonnaires de l'effet des lymphocytes par la voie de la facilitation immunologique efférente". Ce phénomène de facilitation peut expliquer "pourquoi les souris après plusieurs grossesses des mâles d'une lignée différente, sont immunologiquement hyperéactives vis-à-vis de greffe de peau et de tumeur paternel, même si elles possèdent des lymphocytes spécifiquement sensibles aux antigènes paternels".

Il est possible d'expliquer aussi pourquoi les anticorps hémaglutinants, leucoaglutinants et cytotoxiques, dirigés contre les antigènes foetaux, produits par la mère et transférés au foetus pendant la grossesse allogénique, ne provoquent pas de lésions détectables sur le foetus.

HELSTROM et al. remarquent cependant "qu'il leur semble non justifié de conclure de ces données in vitro seulement, que la facilitation immunologique explique entièrement le fait que l'embryon complètement étranger n'est pas altéré in vivo" et qu'il existerait d'autres mécanismes impliqués dans ce phénomène.

L'effet des anticorps bloquants observé par HELSTROM pourrait expliquer les résultats de l'expérience de LEWIS (1966) avec des lymphocytes de femmes enceintes et les expériences de HALBRECHT (1968), et OHAMA (1971) avec des lymphocytes des femmes présentant des avortements à répétition ou femmes stériles.

./.

Dans l'expérience de LEWIS et al. (1966) les lymphocytes des femmes enceintes, mises en culture mixte avec les lymphocytes de leur mari, présentent une transformation lymphoblastique moins importante que lorsqu'ils sont cultivés avec les lymphocytes des personnes non apparentées. L'inhibition de la transformation blastique est plus marquée chez les multipares que chez les primipares.

HALBRECHT et COLMOS (1968) trouvent que la transformation blastique des cultures mixtes de lymphocytes des couples avec avortements répétés est plus importante que celle des couples témoins.

OHAMA et KATODANI (1971) comparent le taux de transformation blastique des cultures mixtes de lymphocytes de couples stériles, de couples avec avortements spontanés et de couples fertiles. Ils trouvaient aussi un pourcentage de transformation nettement élevé dans les LMC des couples stériles et des couples avec avortements spontanés.

Dans les trois expériences citées (LEWIS, HALBRECHT, OHAMA) les cultures mixtes de lymphocytes étaient faites avec le plasma autologue. Il est donc possible que les anticorps bloquants présents dans le plasma maternel soient responsables, en partie, des résultats obtenus.

LEVENTHAL et al. (1970) ont étudié la réponse des lymphocytes des mères aux stimulations antigéniques des lymphocytes mitomycinés de leurs enfants (cultures mixtes unidirectionnelles) en présence du plasma maternel*. Dans les conditions de l'expérience il apparaît que :

- Le plasma maternel inhibe la capacité stimulante des lymphocytes de leurs enfants.

- La capacité des lymphocytes des enfants de répondre dans les cultures mixtes unidirectionnelles n'est pas affectée par le sérum maternel.

- Le plasma des mères, examiné par immunofluorescence montre la présence des anticorps IgG, couvrant les cultures du

* Ces expériences sont faites en-dehors de la grossesse.

tissu lymphoide avec IH-A. spécificité connue.

Les auteurs concluent "qu'un anticorps est présent dans le plasma maternel, qu'il couvre les cellules stimulantes (les lymphocytes des enfants) et diminue leur capacité de stimuler les MLC".

Dans l'expérience de D. JENKINS et K. HANCOCK (1972) la réactivité des lymphocytes et l'effet du sérum sont examinés chez les femmes multipares au stade de grossesse avancée, ou pendant les premières semaines après l'accouchement. Les cultures mixtes sont faites avec des lymphocytes de la femme enceinte et le père, et avec les lymphocytes de la mère et le sang du cordon du nouveau-né. Dans les deux types de cultures le sérum maternel diminue la transformation lymphoblastique, l'inhibition étant particulièrement nette en fin de grossesse et 6 semaines après l'accouchement. JENKINS et HANCOCK supposent que l'effet inhibiteur est dû à des facteurs spécifiques probablement anticorps présents dans le sérum maternel, qui se fixents sur les antigènes étrangers des lymphocytes du père ou du foetus. Pour prouver leur hypothèse ils lavent à plusieurs reprises les lymphocytes maternels et ajoutent aux cultures mixtes,du sérum de nouveau-né. Le pourcentage moyen de transformation dans ce cas est significativement plus important que celui des cultures avec sérum des multipares.

Pour les auteurs ces résultats sont en faveur "d'une tolérance maternelle spécifique aux antigènes d'histocompatibilité du père ou du nouveau-né, qui apparaît après la première grossesse" et qui est plus importante chez les multipares.

GUSDON J. et al. (1970) décrivent des anticorps spécifiques anti-HPL (HCS - hormone chorionique somatomammotrope) chez 80 % des femmes pendant la période du postpartum. Il s'agit des anticorps de classe IgM, ne fixant pas le complément et apparaissant dans le sérum après l'élimination du placenta. Les auteurs supposent que ces anticorps

./.

sont dirigés contre les protéïnes placentaires et jouent un rôle dans la facilitation immunologique en prévenant le rejet du trophoblaste par les lymphocytes maternels.

Dans son exposé sur le rôle inhibant des sérums anti-HLA, CEPPELLINI et al. remarquent que les anticorps présents dans ces sérums peuvent avoir, in vivo, un effet facilitant dirigé contre l'immunité cellulaire en cas de tumeurs, grossesse ou greffe d'organes. CEPPELLINI explore l'effet des sérums anti-HLA sur les cellules immunocométantes en utilisant comme système expérimental des cultures lymphocytaires mixtes unidirectionnelles et des cultures stimulées par la tuberculine.

Le sérum anti-HLA est obtenu par immunisation programmée des volontaires par petites transfusions d'un même donneur. Le sérum contenant les anticorps anti HLA ainsi sollicités,inhibe les cultures lymphocytaires mixtes dans lesquelles les lymphocytes du donneur sont utilisés comme cellules stimulantes ou comme cellules répondantes. Le sérum anti HLA inhibe aussi la transformation lymphoblastique induite par la tuberculine. Les résultats de cette expérience prouvent, d'après les auteurs "l'antagonisme qui existe entre les anticorps humoraux et l'immunité cellulaire, particulièrement quand les antigènes d'histocompatibilité sont impliqués". Les auteurs remarquent que la corrélation entre l'inhibition desLMC et la spécificité HL-A est apparemment faible.

Le problème de la hétérogénécité des anticorps bloquants la transformation blastique est discutée par R. ROBERT et al. (1973). En utilisant des cultures mixtes de lymphocytes mère - père, mère - personne non apparentée, ils trouvent que l'effet bloquant du sérum maternel est souvent dirigé contre les lymphocytes des personnes non apparentées, sans spécificité HLA commune avec le père, fait en faveur de la hétérogénécité des alloanticorps bloquant les LMC.

Des études très intéressantes sont réalisées par CHAOUAI (1973) dans le laboratoire de G. VOISIN. L'auteur met en évidence l'existence d'une fixation physiologique d'anticorps

./.

sur le placenta des souris. Ces anticorps sont dirigés contre des sites H2 spécifiques. Leur caractère facilitant est suggéré par 1) "le phénomène de survie anormale de greffes de lignée paternelle durant la grossesse et le fait qu'on retrouve ces anticorps dans les éluats des tumeurs qui prennent pendant la grossesse ; 2) le phénomène de survie anormale de cellules tumorales de lignée paternelle, injectées à des souris non enceintes, mélangées avec de l'éluat placentaire".

L'expérience de CHAOUAT apporte des arguments en faveur de l'hypothèse du rôle de la facilitation immunologique dans la tolérance du foetus par la mère : la survie du foetus dépend de la balance de deux phénomènes immunologiques : rejet et facilitation, déclenchés par le placenta immédiatement après la nidation. Les anticorps facilitants agiraient en compétition avec les anticorps cytotoxiques comme "anticorps bloquants". A leur action locale s'ajouterait unne immunodépression cellulaire induite primitivement par le placenta ou de façon secondaire par les anticorps facilitants.

Des études ultérieures permettront sans doute de comprendre les interactions entre les facteurs immunologiques spécifiques et les facteurs non spécifiques, et le mécanisme par lequel le placenta contrôle les phénomènes immunologiques de la grossesse.

3.3. EFFET DU SERUM ET DES FACTEURS SERIQUES SUR L'IMMUNITE DE LA FEMME ENCEINTE

De nombreuses recherches, effectuées pendant ces dernières années ont concerné le rôle du sérum et des facteurs extracellulaires sériques sur l'immunité au cours de la grossesse.

Ces études sont faites le plus souvent in vitro, par le test de transformation lymphoblastique.

./.

3.3.1. EFFET DU SERUM DE LA FEMME ENCEINTE SUR LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

S. KASAKURA (1971) étudie l'effet du sérum des femmes enceintes sur la transformation blastique des cultures mixtes de lymphocytes mère - nouveau-né, mère - personnes non apparentées. Les résultats de l'expérience montrent que les LMC sont inhibés par le sérum maternel. L'activité inhibitrice est trouvée à partir de la 12e semaine de la grossesse, et augmentant progressivement elle atteint son maximum au moment de l'accouchement, pour disparaître 3 jours plus tard.

Le sérum de contrôle provenant des femmes qui n'ont jamais été enceintes est dépourvu de cet effet.

Par ailleurs, le sérum des nouveaux-nés inhibe la transformation blastique des LMC mère - nouveau-né, mais n'agit pas sur les LMC mère - donneur non apparenté.

Deux hypothèses sont proposées par l'auteur :

- L'inhibition peut être due aux anticorps bloquants discutés par LEWENTHAL (1970), dans son expérience avec le sérum des multipares non enceintes.

Mais dans l'expérience de KASAKURA le sérum provient de primipares et primigestes qui ne possèdent d'anticorps contre les antigènes d'histocompatibilité de leur foetus. Un deuxième argument contre cette hypothèse, est que les sérums de 68 femmes testées inhibent non seulement les cultures mixtes des lymphocytes mère - nouveau-né, mais aussi les LMC des personnes choisies au hasard, donc l'inhibition n'est pas spécifique. Un troisième argument enfin=l'activité inhibitrice disparaît avec la fin de la grossesse.

- L'effet inhibiteur peut être lié à la présence des 17 hydroxycorticochiroïdes dans le sérum des femmes enceintes. En effet d'une part il est démontré que le taux des 17 C.S. augmente progressivement pendant la grossesse, et atteint des valeurs importantes à la fin de la gestation. Après l'accouchement leur taux s'effondre pour arriver à des valeurs normales au 6e jour post-partum. D'autre part l'effet inhi-

biteur de l'hydrocortisone sur la transformation lymphoblastique est bien connu (TORMEY, STEPHANI). On aurait pu supposer, d'après les auteurs, que les corticostéroïdes sont responsables de l'effet inhibiteur du sérum des femmes pendant la grossesse.

L'expérience de KASSONURA et al. ne permet pas de préciser la nature des facteurs inhibiteurs sériques au cours de la grossesse. Elle démontre clairement que ces facteurs apparaissant avec la grossesse, augmentent au cours de son évolution et disparaissent après l'accouchement. Leur effet non spécifique fait penser qu'il s'agit probablement d'hormones et (ou) de substances biologiques, produites ou très étroitement liés à l'unité foeto-placentaire.

Dans son expérience SANFORD LEIKIN (1972) détermine l'effet du sérum des femmes enceintes sur la transformation blastique des lymphocytes homologues, et des lymphocytes des nouveaux-nés en cultures unidirectionnelles.

Les résultats de son expérience montrent que la transformation blastique de LMC unidirectionnelle est inhibée par la présence du sérum des femmes enceintes. Cet effet inhibiteur du sérum apparaît aussi quand les lymphocytes des hommes non apparentés sont stimulés par la vaccine ou par la PHA.

LEIKIN conclut que "l'effet inhibiteur peut être dû à un ou plusieurs facteurs immunologiques, hormonaux aux autres et qu'il peut être important dans la modification de la réactivité des cellules maternelles vis-à-vis du tissu foetal, et qu'il peut retarder le rejet du foetus".

LEBRUN et al. (travail non publié) étudient, eux aussi, l'effet du sérum maternel sur la réponse des lymphocytes dans les LMC unidirectionnelles. Il ressort de leur expérience que le "sérum maternel manifeste une activité inhibitrice sur les lymphocytes des donneurs non apparentés, comparable à l'activité inhibitrice sur les lymphocytes du nouveau-né et du père ; cet effet inhibiteur du sérum maternel est maximal ouand les

./.

lymphocytes maternels sont présents dans les LMC.

LEBRUN et al. trouvent également que les lymphocytes maternels représentent une réponse diminuée aux stimulations antigéniques dans les LMC en présence du sérum normal.

Les auteurs supposent que les lymphocytes des femmes enceintes produisent une substance inhibitrice non spécifique dont l'effet dépend de sa concentration. Cette hypothèse expliquerait l'augmentation de l'activité inhibitrice du sérum en présence des lymphocytes maternels.

L'étude très intéressante réalisée par MARAZ et al. (1974) apporte des arguments en faveur d'une telle hypothèse.

Les auteurs trouvent qu'il existe un inhibiteur de la synthèse de l'ADN dans le surnageant des cellules lymphocytaires activées par la PHA, quand les lymphocytes proviennent de femmes enceintes ou de femmes avec choriocarcinome. Une forte inhibition est observée pendant les deux premiers trimestres, mais aussi au moment de l'accouchement.

Le surnageant des cultures de lymphocytes de témoins stimulées par la PHA, augmente la synthèse de l'ADN. (L'activité du facteur est mitogénodépendant, car le surnageant des cultures lymphocytaires non activées par la PHA, est sans effet sur la synthèse de l'ADN).

Les auteurs précisent que le facteur inhibiteur est dialysable, que son p.m. est d'environ 10 000 et qu'il est thermolabile : chauffée à 56° pendant 30 minutes le surnageant perd sa propriété inhibitrice et devient stimulant de la synthèse d'ADN. On peut penser donc qu'"au moins deux facteurs différents sont responsables des phénomènes observés et qu'un des facteurs masque l'effet de l'autre".

En d'autres termes, cette observation montre que pendant la grossesse un inhibiteur de la synthèse de l'ADN

./.

non cytotoxique et thermolabile existe dans le surnageant des cultures lymphocytaires activées par la PHA. Par contre, dans les mêmes conditions expérimentales, le surnageant des cultures de lymphocytes normaux, contient un facteur thermostable qui augmente la synthèse de l'ADN.

MARAZ et al. considèrent que le facteur inhibant la synthèse de l'ADN peut intervenir in vivo en inhibant certaines cellules stimulées synthétisant la ADN et que des "médiateurs extracellulaires peuvent jouer un certain rôle dans la survie de l'allogreffe foetale et du trophoblaste pathologique."

L'expérience de JONES E. (1973) confirme les résultats trouvés par les auteurs préalablement cités ;

Le sérum des femmes au troisième trimestre de la grossesse et au moment de l'accouchement inhibe la transformation blastique des cultures mixtes des lymphocytes provenant des sujets pris au hasard.

La conclusion de JONES, que l'effet inhibiteur du sérum maternel est plus important pendant le dernier trimestre, est en accord avec les résultats de KASAKURA qui montrent une activité suppressive du sérum qui va en augmentant avec l'évolution de la grossesse.

En ce qui concerne la nature de ce facteur immunosuppresseur sérique, JONES E. considère qu'il est vraisemblablement non spécifique puisqu'il agit sur les lymphocytes des donneurs pris au hasard.

Puisque ce facteur immunosuppresseur est présent dans le sérum pendant le dernier trimestre de la grossesse, l'auteur suppose qu'il "peut jouer un rôle partiel permettant à la mère de tolérer le foetus et le placenta".

Dans leur expérience, HILL et al. (1973), en utilisant comme test de l'immunité cellulaire in vitro la trans-

./.

formation blastique des lymphocytes stimulés par la PHA, montrent aussi que le sérum des femmes enceintes inhibe la transformation lymphoblastique et "qu'il y a un inhibiteur sérique pendant la grossesse, fait peut-être en rapport avec la survie de l'allogreffe foetale".

Malgré les différentes techniques utilisées dans les expériences que nous avons résumé dans ce chapitre quelques points communs peuvent être notés :

- Dans toutes les expériences citées le sérum des femmes enceintes exerce un pouvoir immunusuppresseur.

- Dans les conditions expérimentales données, les facteurs immunosuppresseurs semblent non spécifiques puisqu'ils agissent sur des cultures lymphocytaires stimulées par la PHA ou la vaccine (LEIKIN, HILL) ou sur des cultures mixtes de lymphocytes de personnes non apparentées (KASAKURA, LEBRUN, JONES).

- L'activité de ces facteurs augmente avec l'évolution de la grossesse et disparaît après l'accouchement (KASAKURA, JONES).

- La nature des facteurs immunosuppresseurs n'est pas certaine*:

hormones (corticoïdes) pour KASAKURA, protéïnes pour JONES, protéïnes secrétées par les lymphocytes pour MARAZ.

- Enfin le rôle des facteurs immunodépresseurs non spécifiques dans le mécanisme complexe de la tolérance du foetus par la mère paraît certaine, mais impossible à préciser dans l'état actuel de nos connaissances.

Il nous semble cependant que ce rôle est partiel et qu'il s'ajoute aux autres mécanismes qui assurent la survie du foetus.

* Il est probable que de multiples facteurs interviennent simultanément. Parmi ces facteurs les hormones de la grossesse ont peut-être une place non négligeable, mais encore mal précisée.

3.2.2. ROLE DES FACTEURS GLYCOPROTEIQUES PLASMATIQUES ET PLACENTAIRE DANS LA MODULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE PENDANT LA GROSSESSE

De nombreuses études ont montré que des fractions sériques contenant l' α globuline exercent une activité immunosuppressive.

COOPERLAND (1968) extrait par chromatographie du sérum humain normal, une fraction d'α globuline, qui in vitro, inhibe la transformation blastique des lymphocytes homologues, induite par la PHA et des antigènes spécifiques. D'après l'auteur "cette observation est en faveur de l'hypothèse qu'il existe un facteur humoral normal qui agit dans la régulation de la réactivité immunologique et qui empêche la prolifération des cellules lymphoïdes".

RIGGIO et al. (1968) ont observé des taux élevés d'une α2 glycoprotéïne dans le sérum des récepteurs de transplantats rénaux, pendant la période de rejet de l'allogreffe.

Les mêmes auteurs (1969) ont constaté que le sérum de ces malades déprime la synthèse de l'ADN des cultures lymphocytaires stimulées par la PHA.

RIGGIO et al. ont rouvé également, comme d'autres auteurs, que le sérum normal contient une α2 glycoprotéïne qui inhibe la synthèse de l'ADN dans des cultures lymphocytaires stimulées. Dans un travail plus récent ils ont pu extraire une glycoprotéïne soluble de placenta humain. Ils ont testé l'effet de cette protéïne sur des cultures lymphocytaires, stimulées par trois substances mitogéniques - PHA, Pokeweed, et GALC. Dans tous les cas l'α glycoprotéïne placentaire inhibait la synthèse de la ADN, raison pour laquelle les résultats ne peuvent pas être attribués à une interférence entre les stimulants et la globuline.

YACHNIN (1972) essaie de démontrer le mécanisme par lequel la fraction α globuline inhibe la réponse des lymphocytes aux stimulations spécifiques et non spécifiques. Dans son expérience la fraction α globulique inhibe la transformation

des lymphocytes in vitro, induite par deux mitogènes hautement purifiés : H-PHAP et L-PHAP. D'après l'auteur, il semble que l'α globuline "n'inhibe pas la transformation blastique par sa capacité de former des précipités non spécifiques avec le mitogène, puisque l'action mitogène des deux préparations du PHA-L et H sont réduites de manière identique, bien que le dernier seulement forme des précipités non spécifiques avec l'α globuline.

Cette expérience est en faveur de l'hypothèse de COOPERLAND qui suggère que les globulines inhibent la transformation lymphoblastique induite par la PHA, par compétition, en empêchant l'accès de la PHA aux sites "antigéniques sur la surface lymphocytaire, très tôt au cours de l'action des mitogènes."

Dans un travail récent, HOFMANN (1973) démontre que les fractions protéïques du sérum de la femme enceinte et des extraits placentaires contenant la PZP (prennoncy zone protéïne) et l'α 2 macroglobuline, inhibent la transformation lymphocytaire induite par la PHA.

La PZP est une α2 glycoprotéïne dont le p.m. est approximativement de 300 000. Elle a pu être partiellement purifiée et isolée en quantité importante par immunoélectrophorèse sur gel d'agarose ou immunoabsorption (HOFMANN, 1973).

La fonction biologique de la P3P n'est pas connue. Le rôle de protéïne - porteur d'oestrogène proposé par CADACH n'est pas confirmé par STRAUBE et al. Cet auteur trouve que la protéïne de la grossesse est très oestrogénodépendante : après l'administration d'oestrogènes et de progestérones avec activité oestrogéniques à des femmes non enceintes, son taux augmente considérablement (STRAUBE, 1973).

Les fractions sériques contenant la protéïne de la grossesse en proportion élevée inhibent la transformation lymphoblastique induite par la PHA. Ces résultats suggèrent une activité immunosuppressive de la protéïne de la grossesse (STRAUBE et al., 1973).

./.

Par conséquent, on aurait pu supposer que les oestrogènes, dont le taux augmente considérablement pendant la grossesse, interviennent dans la tolérance immunologique indirectement, en augmentant le taux de la protéïne de la grossesse.

Les études de STRAUBE représentent une approche du problème concernant le rôle que les hormones de la grossesse pourraient jouer, ainsi que du mécanisme de leur action sur l'inhibition de la réponse immunologique.

3.3.3. ROLE DES HORMONES DANS LES PHENOMENES IMMUNOLOGIQUES DE LA GROSSESSE

La grossesse est accompagnée d'une augmentation du taux des corticostéroïdes, de même que d'une production importante de stéroïdes sexuels et d'hormones polypeptiques placentaires.

Nous pouvons penser que les modifications importantes du profil hormonal qui en résulte pourraient influencer la réactivité immunologique de la femme enceinte.

De nombreuses expériences in vivo ont été faites dans le but d'étudier le rôle des hormones placentaires dans la survie des greffes sur des animaux de laboratoire.

Les résultats de ces expériences semblent moins contradictoires si on prend en considération les conditions (lieu et voie d'administration) dans lesquelles les greffes étaient effectuées.

En effet, on ne saurait pas comparer l'effet des hormones d'origine placentaire sur la survie des greffes cutanées et la survie des greffes au niveau de l'utérus, qui est l'organe cible de leur action.

Dans une série d'expériences, que nous allons brièvement citer, les auteurs cherchent à mettre en évidence l'effet des hormones placentaires dans la survie des greffes au niveau

./.

du revêtement cutané ou la cornée, donc des organes qui ne sont pas impliqués dans la grossesse. Ces expériences reflètent en fait, l'action des hormones sur l'immunité cellulaire générale et les résultats sont assez contradictoires.

SIMMONS (1968) observe une prolongation de la survie de l'homogreffe sur des animaux traités par l'oestradiol, par voie générale.

L'étude de PEARSE (1967) montre une prolongation de la survie de l'allogreffe cutanée chez la souris, soumise aux injections quotidiennes d'HCG par voie intraveineuse.

Dans une expérience plus récente avec des souris PEARSE (1969) étudie l'effet des hormones (HCG, l'oestrodiol, la progestérone et l'hydrocortisone) et de l'extrait placentaire sur la survie de l'allogreffe cutanée. Les hormones sont administrées isolément ou en combinaison par voie péritonéale.

D'après l'expérience de PEARSE la survie de l'allogreffe cutanée est prolongée par la cortisone seulement, en cas d'application isolée. L'HCG n'a pas d'effet sur l'allogreffe. Par contre l'HCG et l'hydrocortisone administrés simultanément montrent une action synergique.

Dans l'expérimentation de HULKA (1969), la greffe cutanée est pratiquée sur des lapines, préalablement castrées, et soumises à l'action des hormones placentaires (oestrogène, progestérone, HCG, HCS), d'extrait placentaire et d'acétate de cortisone. Une prolongation marquée de la survie de l'allogreffe est observée chez des animaux traités par la cortisone localement ou par voie générale. L'allogreffe chez des lapines traitées localement par l'HCG et extrait placentaire est légèrement prolongée. L'auteur n'observe aucune prolongation significative de la survie de l'allogreffe chez des animaux soumis à l'action de l'oestrogène et de la progestérone.

Dans l'expérience de WALTMAN (1971) les oestrogènes (solution huileuse de propionate d'oestrodiol et suspension acqueuse d'oestrone) administrés par voie générale, previennent le rejt de greffe cornéale chez des lapines albinos.

./.

BOLLINGHAM (1970) et BEER et al. (1971) ont évalué la réceptivité de l'utérus comme lieu de greffe et le rôle des oestrogènes dans la tolérance immunologique. Par une technique simple ils ont placé des fragments cylindriques de peau de la queue des rats ou des suspensions monodispersées des cellules épidermiques, en contact intime avec la surface de l'endomètre complètement intact. Les greffes étaient acceptées et elles ont eu une survie indéfinie dans 100 % des cas, à condition que l'oestrogène exogène soit administrée régulièrement à partir du jour de la greffe. Chez les rattes qui n'étaient pas traitées par l'oestrogène les greffes étaient rejetées par le vagin de l'hôte pendant les premières 78 heures. En l'absence de l'oestrogène exogène les greffes de peau placées dans l'utérus des rattes gravides, 5 jours après la conception, étaient acceptées facilement, sans altérer le développement normal des embryons dans les cornes intactes.

L'étude histologique des greffes épidermiques au niveau de l'endomètre chez des rattes traitées par l'oestrogène, a montré que les foyers de l'épithélium en prolifération étaient distribués au niveau de l'endomètre d'une façon analogue à l'attachement de l'embryon. Ces expériences montrent d'une part le rôle des oestrogènes dans la prise d'allogreffe intra-utérine, qu'elle soit une blastocyste ou un embryon placebo, sous forme d'une greffe de peau ou d'une suspension de cellules épidermiques.

D'autre part, l'étude histologique suggère que les cellules épidermiques sont capables de s'implanter dans l'utérus en un nombre prédéterminé par l'endomètre, qui normalement reçoit le blastocyste.

La manière par laquelle les oestrogènes agissent sur le milieu utérin pour permettre l'implantation de la greffe sur sa surface complètement épithéliatisée, n'est pas encore élucidée (BEER, BILLINGHAM, 1971).

*

* *

4. C O N C L U S I O N

Les résultats de nos expériences montrent que les hormones polypeptidiques placentaires, utilisées aux concentrations identiques ou supérieures à celles du sang, inhibent la transformation blastique des lymphocytes en cultures mixtes. Le degré de l'inhibition dépend de la concentration hormonale utilisée.

Gonadotrophine chorionique humaine (HCG).

- L'HCG utilisée à des concentrations de 500 UI et 1000 UI inhibe les cultures mixtes dans tous les cas : la transformation lymphoblastique, exprimée en pourcentage par rapport à la transformation des cultures mixtes témoins, varie de 31% à 80 %.

- La concentration de 125 UI et 250 UI est inhibitrice dans la plupart des cas : 13 cultures sur 18 testées présentent une transformation de 38 à 87 % par rapport à celle des cultures témoins, la moyenne étant de 78 % pour la concentration de 125 UI et de 81,4 % pour la concentration de 250 UI par ml de culture.

- L'inhibition est nette avec une concentration de 40 UI par ml : huit cultures sur neuf présentent une transformation blastique de 54 % à 78 %. En outre, les résultats sont bien groupés autour de la moyenne de transformation (70 %).

Hormone chorionique somatomammotrophique (HCS).

L'effet inhibiteur de cette hormone est moins prononcé et les résultats plus dispersés. Toutefois on peut admettre que :

- l'inhibition est à peu près certaine pour la concentration de 100 µg/ml.

- l'effet des concentrations de 25 UI et de 50 UI par ml de culture est faible.

- l'inhibition est relativement plus importante aux concentrations de 8,5 et 16 µg d'HCS par ml de culture ; elle

./.

est marquée surtout pour la concentration de 16 µg/ml de suspension cellulaire.

Nous serions donc tentés de trouver une certaine ressemblance entre les deux courbes d'action d'HCG et d'HCS : inhibition sur les cultures mixtes de lymphocytes à de faibles concentrations ; action moins nette pour les concentrations moyennes ; inhibition assez marquée et constante aux concentrations élevées.

Ce phénomène nécessite des études plus poussées avec un nombre plus important d'essais et une gamme plus détaillée de concentrations hormonales.

Bien que l'extrapolation clinique des résultats obtenus in vitro doive être faite avec beaucoup de réserves, les corrélations entre les concentrations hormonales et leur effet inhibiteur suscitent les réflexions suivantes :

- l'effet inhibiteur de doses faibles d'HCG, fait penser que l'hormone secrétée en quantités faibles dès l'implantation de l'oeuf, exercerait une inhibition précoce de l'immunité maternelle, avant que les autres mécanismes immunologiques se soient développés. L'effet inhibiteur des concentrations élevées d'HCG se manifeste peut être in vivo, pendant le pic de sa secrétion, de la 8e à la 11e semaine, lorsque l'hormone est secrétée au niveau du trophoblaste à des taux très importants qui pourraient "inhiber le système immunologique maternel, duquel dépend la reconnaissance des antigènes étrangers" (JENKINS). Un tel rôle peut être particulièrement important pour la protection du foetus à la fin du premier trimestre.

Quant à l'HCS, à la suite de nos expériences qui montrent un effet inhibiteur pour des concentrations plus élevées que celles du sang circulant, nous pouvons supposer qu'elle agit sur la réponse immunitaire maternelle au niveau du trophoblaste et pendant des stades avancés de la grossesse.

En somme, il est possible que l'HCG et l'HCS inhibent les réactions immunitaires à médiation cellulaire à la surface maternelle des cellules trophoblastiques. C'est à ce niveau que se réalise le contact entre les antigènes étrangers

./.

à la mère et son système de défense immunitaire. C'est à ce niveau également, que les hormones sont secrétées et leur concentration est probablement élevée. On peut supposer que l'HCG et l'HCS participent, ainsi, à une "barrière hormonale locale" qui influence l'immunité maternelle et qui joue un rôle accessoire, mais peut être non négligeable, dans le mécanisme complexe de tolérance du foetus par la mère.

Sur un plan plus général, on pourrait attribuer à HCG et HCS un rôle régulateur de l'activité immunitaire pendant la grossesse : stimulation de la réponse humorale et inhibition des réactions immunitaires à médiation cellulaire, directement, et par l'intermédiaire de l'augmentation de la production des anticorps bloquants (FABRIS).

Nos futures recherches seront axées sur le mécanisme de l'action inhibitrice d'HCG et d'HCS que nous avons observée et sur le rôle éventuel, régulateur de ces hormones vis-à-vis de l'immunité cellulaire et humorale pendant la grossesse en utilisant des modèles expérimentaux appropriés.

5. B I B L I O G R A P H I E

ANDERSON J.M.
Transplantation - nature's success.
Lancet, 1971, 13, 1077-1082.

BACH F.H., HIRSCHORN K.
Lymphocyte interaction : a potential in vitro histocompatibility test.
Science, 1964, 143, 813-814.

BRUNER J.A.
Distribution of chorionic gonadotrophin in mother and fetus at various ages of pregnancy.
J. Clin. Endoc., 1951, 11, 360.

BEER A.E., BILLINGHAM R.E.
Immunology of mamalian reproduction.
Advences in Immunology, 1971, 14, 1-84.

CHAOUAT G.
La grossesse est-elle en partie une homogreffe facilitée ?
(De quelques arguments expérimentaux en faveur de cette théorie).
Thèse 1973 - Paris.

CEPPELLINI R., BONNARD G.D., COPPO F., MIGGIANO V.C., POSPISIL M., CURTONI E.S., PELLEGRINO M.
Mixed leucocyte cultures and LH-A antigens. I. Reactivity of young fetuses, newborns and mothers at delivery. II. Inhibition by anti HL-A sera.
Transplant. Proc., 1971, 3, 58-70.

CONTRACTOR S.F., DAVIES H.
Effect of human chorionic somatomammotrophin and human chorionic gonadotrophin on phytoheamagglutinin - induced lymphocyte transformation.
Nature New Biol., 1973, 243, 284-286.

COOPERLAND S.R., BONDEVIK H., SCHMID K., MANNICK J.
Transformation of human lymphocytes : inhibition by homologous alpha globulin.
Science, 1968, 159, 1243-1244.

./.

DICZFALUZY E.
Chorionic gonadotrophin and ostrogens in human placenta.
Acta Endocr., 1953, Suppl. 12, 3.

DU-PAN M.R., HUEGENIN M., STEEL S.
Removal of the factor which depresses the leucocyte response to phytohemagglutinin in maternal plasma.
Immunology in Obstetrics and Gynaecology, 1974, 207-210.
Proc. First Int. Congress Padua. Excepta medica Amsterdam.

FABRIS N., SERRI F.
Immunological reactivity during pregnancy in the mouse. in :
Immunology in obstetrics and gynecology, 1974, 183-187.
Proc. First Int. Congress Padua. Excepta medica Amsterdam.

FABRIS N.
Hormons and the immunological capacity. Respective effects of developemental hormones or of lymphocytes of the immunodeficiency syndrome of the twart mouse.
Clin. Exp. Immunol., 1971, 9, 227-240.

FINN R., HILL C.A. St., GOVAN A.J., RALFS I.G., GURNEY F.J., DENYE V.
Immunological reponses in pregnancy and survival of fetal homograft.
British Med. J., 1972, 3, 150-152.

GUSDON J.P., LEAKE N.H., BURT R.L.
Naturally occuring antibody to placental protein in human pregnancy.
Amer. J. Obst. Gyn., 1970, 108, 1056-1062.

HALBRECHT I., COLMOS L.
Lymphocyte transformation in mixed wife - Husband leucocyte cultures in abortions and hydatiforme moles.
Obstetrics and Gynecology, 1968, 31, 173-176.

HELSTROM K.E., HELSTROM J., BRAWN J.
Abrogation of cellular immunity to antigenicaly foreign mouse embryonic cells by a serum factor.
Nature,(Lond), 1969, 224, 914-915.

HOFMANN R., STRAUBE W., KLAUSCH B.
Analytical and preparative investigations of the pregnancy - typical protein of the "pregnancy zone".
Immunology in obstetrics and gynecology, 1974, 226-228.
Proc. First Int. Congress Padua. Excepta medica Amsterdam.

HUBERT C., HARTMANN M., STRAUCH G., CEDARD L.
Dosage de l'hormone chorionique somatomammotrophique (ou hormone lactogène placentaire) dans le plasma des femmes enceintes.
J. Gyn. Obst. Biol. Repr., 1972, 1, 843-853.

./.

HULKA J.F., KATHELEEN M.
Placental hormones and graft rejection.
Amer. J. Obst. Gyn., 1969, 104, 889-892.

JENKINS D.M., HANCOCK K.W.
Maternal unresponsiveness to paternal histocompatibility antigens in human pregnancy.
Transplantation, 1972, 13, 618-619.

JENKINS D.M., ACRES M.G., PETERS J., RILEY J.
Human chorionic gonadotrophin and the fetal allograft.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1972, 114, 13-15.

JONES E., CURZEN P.
The immunological reactivity of maternal lymphocytes in pregnancy.
J. Obst. Gyn. Brit. Commonw., 1973, 80, 608-610.

JONES E., CURZEN P., GAUGAS J.M.
Supressive activity of pregnancy plasma on the mixed lymphocyte reaction.
J. Obst. Gyn. Brit. Commonw., 1973, 80, 603-607.

KASAKURA S.
A factor in maternal plasma during pregnancy that supresses the reactivity of mixed leucotyte cultures.
J. Immunol., 1971, 107, 1296-1301.

KAYE M.B., JONES Ph.D.
Effect of human chorionic gonadotropin on in vitro lymphocyte transformation.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1971, 109, 1029-1031.

LEBRUN A., SASPORTES M., LEBRUN D., DAUSSET J.
MLC studies of the feto-maternal relationships.
Communication personnelle.

LEIKIN S.
The immunosuppressive effect of maternal plasma. in :
Proc. Sixth leucocyte culture conference, ed. Schwarz M.R., 1972, 725-742. Academic Press, New-York.

LESNIAK M.,ROTH J., GORDEN Ph., GAVIN J.
Human growth hormone radio receptor assay using cultured human lymphocytes.
Nature New Biology, 1973, 241, 20-21.

./.

LEVENTHAL B.C., BUELL D.N., YANKEE,R., ROGENTINE G.N.
The mixed leucocyte response : effect of maternal plasma.
Proc. Fifth Leucocyte Culture Conference, ed. Harris J.E.,
1970, 473-486, Academic Press, New York.

LEWIS J., WHANG J., NAGEL B., OPPENHEIM J., SEYMOUR P.
Lymphocyte transformation in mixed leucocyte cultures in women with normal pregnancy or tumors of placental origin.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1966, 96, 287-290.

MARAZ A., PETRI J.B.
Intrinsic alteration of lymphocyte reactivity in women with normal pregnancy or tumor of placental origin.
Cellular immunology, 1974, 10, 496-499.

METCALF W.K., METCALF N.F.
Platelets, pregnancy, and phytohemagglutinin.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1972, 114, 602-606.

MORIN P., ALCALAY D., CHOUKROUN J.,
Etude du terrain immunologique de la femme enceinte par le test de transformation lymphoblastique.
Gyn. Obst. (Paris), 1971, 70, 155-158.

OHAMA K., KATODANI T.
Lymphocyte reaction in mixed wife - husband leucocyte cultures in relation to infertility.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1971, 109, 177-179.

PUTRILO D.T., HALLEGREN H.M., YUNIS J.E.
Depressed maternal lymphocyte response to phytohaemagglutinin. in human pregnancy.
The Lancet, 1972, 8, 769-771.

PEARSE W.H., CURTIS G.L.
Skin allograft survival and lovered maternal immunologic reactivity.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1969, 104, 419-420.

ROBERT M., BETVEL H., REVILLARD J.P.
Inhibition of the mixed lymphocyte reaction by sera from multipara.
Tissue Antigens, 1973, 3, 39-56.

RIGGIO R.R., PARRILLO J.E., BULL F.G., SCHWARTZ G.H.,
STENZEL K.H., RUBIN A.L.
Inhibition of lymphocyte transformation by a placental glycoprotein.
Transplantation, 1971, 12, 400-401.

./.

SMITH J.K., CASPARY E.A., FIELD E.J.
Lymphocyte reactivity to antigene in pregnancy.
Amer. J. Obst. Gynecol., 1972, 113, 602-606.

STRAUBE W., SUCHODELETZ W.V., HOFMANN R., KLAUSCH B.
Inhibition de la transformation lymphocytaire in vitro par fractions protéïques du sérum des femmes gestantes et par extraits placentaires.
Zbl. Gynak., 1973, 95, 1462-1465.

VOISIN G.
The impact of mother - fetus immunological relationships on fundamental immunological concepts.
Immunology in obstetrics and tynecology, 1974, 109-110.
Proc. First Int. Congress Padua. Excepta medica Amsterdam.

WATKINS S.M.
Lymphocyte response to phytoheamagglutinin in pregnancy.
J. Obst. Gynecol. Brit. Commonw, 1972, 79, 990-993.

WALTMAN S.R., BURDE R.M., BERIOS J.
Prevention of corneal homograft rejection by estrogens.
Transplantation, 1971, 11, 194-196.

YACHNIN S.
Inhibition of phytoheamagglutinin - induced lymphocyte transformation by α globulins ; Lack of correlation with phytoheamagglutinin precipitation by serum proteins.
J. Immunology, 1972, 108, 845-847.